

	Tissue fibrosis			P value
	Mild (n=58)	Moderate (n=78)	Severe (n=49)	
ICD or CRT-D, n (%)	8 (15)	19 (24)	19 (39)*	0.009 vs. mild*
Prior sustained VT/VF, n (%)	5 (9)	9 (12)	12 (24)	NS
Sustained VT, n	4	6	8	
Spontaneous VF, n	1	3	4	
Subsequent VT/VF or SCD, n (%)	5 (9)	10 (13)	16 (33)*,†	0.006 vs. mild* 0.02 vs. moderate†
Sustained VT without ICD, n	0	3	5	
Spontaneous VF without ICD, n	1	5	1	
SCD without ICD, n	2	1	0	
Appropriate ICD discharge, n	2	1	10	
Total VT/VF or SCD, n (%)	8 (14)	18 (23)	20 (41)*	0.003 vs. mild*

\*Statistically significant difference between mild and severe. †Statistically significant difference between moderate and severe. Abbreviations as in Table 1.

	Univariate analysis			Multivariate analysis		
	HR	95% CI	P value	HR	95% CI	P value
Age (year)	0.97	0.95–1.00	0.05			
Male sex	1.56	0.74–3.58	0.24			
Tissue fibrosis (/10%)	2.57	1.56–4.39	0.0002	1.65	1.19–2.28	0.003
Cell diameter ( $\mu\text{m}$ )	1.07	1.00–1.14	0.04	0.99	0.90–1.07	0.82
Disarray (/1 grade)	1.05	0.79–1.38	0.75			
Max. wall thickness (mm)	0.98	0.92–1.04	0.53			
Asymmetric hypertrophy	0.85	0.37–1.91	0.70			
LGE %LV mass (4 SD) (%)	1.04	1.00–1.10	0.06			
LVEF (/10%)	0.67	0.54–0.82	<0.0001	0.64	0.48–0.84	0.001
PCWP (/mmHg)	1.04	0.99–1.09	0.12			
LAS40 (/5 ms)	1.14	1.07–1.20	0.0002			
fQRS (/10 ms)	1.15	1.04–1.25	0.008			
RMS voltage ( $\mu\text{V}$ )	0.99	0.97–1.00	0.002			
Positive LP by SAECG	5.11	2.29–11.5	0.0001	3.14	1.06–8.61	0.04
QRS duration (/10 ms)	1.16	1.06–1.25	0.001	0.94	0.82–1.06	0.32
QTc interval (/10 ms)	0.76	0.95–1.06	0.76			

CI, confidence interval; HR, hazard ratio; LGE, late gadolinium enhancement by CMR. Other abbreviations as in Table 1.

sis was significantly associated with subsequent lethal ventricular arrhythmias. During the  $5\pm 4$  year follow-up period, 31 patients had lethal arrhythmic events (15 cases of sustained VT or VF, 3 of SCD, and 13 of appropriate ICD discharge). These events occurred in 5 of 58 (9%) patients with mild fibrosis, in 10 of 78 (13%) patients with moderate fibrosis, and in 16 of 49 (33%) patients with severe fibrosis (HR: 5.43, 95% confidence interval (CI): 2.12–16.6;  $P=0.0003$ ; severe vs. mild). The total number of patients with lethal arrhythmic events, including prior and subsequent VT/VF or SCD, was larger in the group of patients with severe fibrosis ( $n=20$ , 41%) compared with mild ( $n=8$ , 14%) or moderate ( $n=18$ , 23%) fibrosis ( $P=0.003$ , severe vs. mild) (Table 2). On the other hand, as shown in Figure 3B, patients with lower LVEF ( $\leq 50\%$ ) had a higher risk of lethal arrhythmic events than those with preserved LVEF ( $P<0.0001$ ).

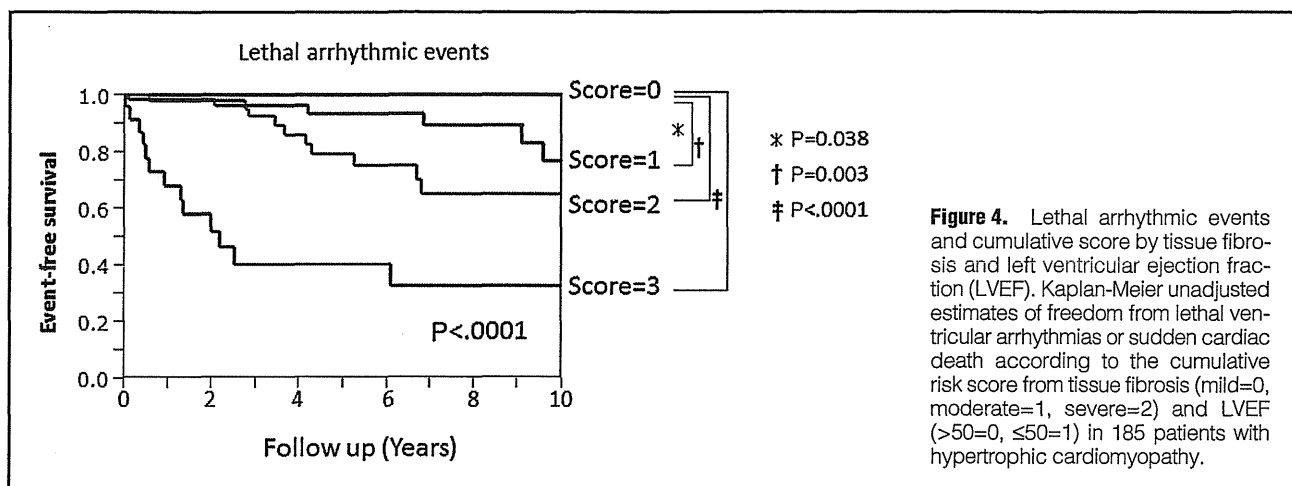
#### CMR-LGE Analysis

Of the 185 clinically diagnosed and pathologically confirmed

HCM patients, CMR was performed in 60 to show fibrotic change by LGE analysis. The LV mass of LGE (LGE %LV mass index) was calculated as the region exhibiting a signal intensity  $>4$  SD. The averaged LGE %LV mass was  $31\pm 18\%$  (range 2–68%). There was no correlation between tissue fibrosis from biopsy and LGE %LV mass by CMR-LGE (Figure S3A). Only in the severe fibrosis group was a significant correlation ( $P<0.05$ ) observed between tissue fibrosis and the LGE %LV mass from CMR-LGE (Figure S3B).

#### Univariate and Multivariate Analyses

As shown in Table 3, univariate analysis revealed that a gradual increase of tissue fibrosis as well as cell diameter, LVEF, LAS40, fQRS, RMS voltage (ie, positive LP) by SAECG, and QRS duration on the 12-lead ECG were associated with subsequent lethal arrhythmic events, including VT/VF, ICD appropriate discharge, and SCD in HCM patients. Furthermore, multivariate analysis revealed that patients with a higher level of tissue fibrosis (HR: 1.65, 95% CI: 1.19–2.28;  $P=0.003$



**Figure 4.** Lethal arrhythmic events and cumulative score by tissue fibrosis and left ventricular ejection fraction (LVEF). Kaplan-Meier unadjusted estimates of freedom from lethal ventricular arrhythmias or sudden cardiac death according to the cumulative risk score from tissue fibrosis (mild=0, moderate=1, severe=2) and LVEF (>50%=0, ≤50%=1) in 185 patients with hypertrophic cardiomyopathy.

per 10% increase), lower LVEF (HR: 0.64, 95% CI: 0.48–0.84;  $P=0.001$  per 10% increase), and positive SAECG (HR: 3.14, 95% CI: 1.06–8.61;  $P=0.04$ ) were prognostic in predicting future lethal arrhythmias.

#### Risk Stratification

Positive LP was only found in 24% of patients with a SAECG recording (Table 1), so LP had a higher specificity but a lower sensitivity for composite cardiac events in this study. To assess the predictive value of classification schemes that estimate lethal arrhythmic events in patients with HCM, we defined the combined risk score (0–3) formed by the sum of each independent risk factor: the degree of tissue fibrosis (mild=0, moderate=1, and severe=2) and LVEF (>50%=0, ≤50%=1). Patients with higher scores tended to have a greater risk of lethal arrhythmic events (Figure 4).

## Discussion

#### New Findings

To the best of our knowledge, this is the first study to demonstrate the prognostic value of fibrotic change in tissue samples by biopsy quantitatively examined in a significant number of HCM patients. The severity of fibrosis in myocardial biopsy, a positive LP on SAECG, and lower LVEF were associated with a greater risk of lethal arrhythmic events in HCM patients. These findings provide novel insight into lethal ventricular arrhythmias and a new approach to estimating the prognosis of HCM patients.

#### Clinical Significance of Fibrosis in HCM

Numerous postmortem studies have demonstrated that myocardial fibrosis (interstitial or replacement) in HCM patients is distinct from that observed in patients with coronary artery disease or dilated cardiomyopathy.<sup>16,17</sup> A key mechanism involved in adverse outcomes in HCM is believed to be myocardial fibrosis, which is a pathological hallmark of the condition,<sup>18</sup> and can be identified by biopsy.<sup>19,20</sup> Recent studies of HCM patients suggest that the extent of fibrosis as measured by CMR correlates with histologically proven myocardial scarring<sup>11</sup> and is associated with worse prognosis,<sup>10</sup> including arrhythmic events.<sup>6,9,21</sup> However, in this study, fibrotic change (LGE %LV mass) by CMR-LGE did not reach statistical significance for the prediction of lethal arrhythmic events (HR=1.04, 95% CI: 1.00–1.10,  $P=0.06$ ) (Table 3). To the best of our knowledge,

only a few reports have compared CMR and histopathology with a focus on fibrosis;<sup>11,12,22</sup> segments containing >15% collagen were more likely to show LGE. However, the LGE technique cannot be used to visualize diffuse fibrosis<sup>23</sup> and it should be noted that the averaged fibrosis in this study was  $15.7\pm 9.8\%$ , which may be difficult to detect by CMR-LGE. No significant relationship was observed between LGE %LV mass by CMR-LGE and tissue fibrosis in myocardial biopsy, especially in cases of mild or moderate fibrotic HCM (Figure S3B).

In this study, the severity of fibrosis, a positive LP, and lower LVEF were significantly associated with prognosis, especially for subsequent lethal arrhythmic events (Table 3, Figure 3). However, disarray was not correlated to the prognosis of patients aged between 20 and 75 (male) or 80 (female) years. These findings are consistent with a previous study that found that the prevalence of disarray was high in HCM patients who died suddenly before 21 years of age.<sup>22</sup> Thus, myocardial disarray may play an important role in the prognosis of younger HCM patients.

#### Promotion of Conduction Abnormality and VT/VF by Myocardial Fibrosis

Fibrous tissue promotes re-entrant ventricular arrhythmias and contributes to increased ventricular stiffness. In a coculture model, increased myofibroblast/myocyte area decreased conduction velocity and degenerated a spiral re-entry into multiple waves, like a VF.<sup>24</sup> Thus, increased myocardial fibrosis and disarray in HCM usually decreases excitation propagation, leading to a conduction delay or block, a substrate of re-entrant arrhythmias. SAECG can noninvasively evaluate a delayed potential as a substrate of ventricular arrhythmias in several diseases, although a previous study suggested that SAECG was not always useful for identifying HCM patients with VT or SCD.<sup>5</sup> Positive LP was found in only 24% of the present patients who underwent SAECG recording (Table 1), so LP had a higher specificity but a lower sensitivity for composite cardiac events in this study. The electrophysiological consequence of this substrate has been well demonstrated by Schumacher et al.<sup>25</sup> LV regional extensive hypertrophy and myocardial scarring are associated with local conduction delay and conduction block, which may contribute to the increased incidence of VT/VF in patients with HCM.

A prolonged QRS duration on 12-lead ECG is associated with an increased risk of cardiovascular death by HF and cardiomyopathy, including in HCM.<sup>26</sup> Kamiyama et al reported

that QRS duration on the 12-lead ECG was much longer in patients with dilated HCM compared with patients with dilated cardiomyopathy.<sup>27</sup> Kawara et al reported the correlation of conduction delay with a fibrotic tissue pattern in chronic diseased myocardium, including HCM, particularly in areas of patchy fibrosis.<sup>28</sup> In this study, QRS duration on standard 12-lead ECG was associated with lethal arrhythmic events only in the univariate analysis (Table 3); however, the severity of fibrosis in the tissue samples was weakly associated with a longer delayed potential (LAS40) (Figure S2). These findings suggest that the increased fibrosis in HCM associated with longer QRS duration and positive LP represented by prolonged delayed potential detected by SAECG indicates an abnormal conduction delay and may contribute at least in part to the increased incidence of lethal ventricular arrhythmias or SCD.

### Prognostic Effect of Tissue Fibrosis and Its Potential for Risk Stratification

Sudden unexpected death is a well-recognized and devastating consequence of HCM. A previous cohort study<sup>29</sup> demonstrated that an appropriate ICD shock was delivered at a rate of 5.6%/year in HCM patients (n=506, mean age 42±17) during 3.7±3-year follow-up. It is of note that patients treated with ICD primarily for prevention also showed a substantial appropriate intervention rate (reported to be 4%/year). Thus, identifying patients with HCM who are at highest risk of SCD is a major problem. The conventional risk factors for the primary prevention of SCD in HCM are family history of SCD, unexplained syncope, multiple-repetitive nonsustained VT, abnormal exercise blood pressure response, or massive LV hypertrophy.<sup>1</sup> However, no significant difference was observed among patients with 1, 2, or ≥3 of these parameters with respect to the likelihood of appropriate ICD discharge.<sup>29</sup> Therefore, this risk stratification cannot always guide SCD prevention in precise terms for each HCM patient, and SCD is also known to occur in patients without any of the aforementioned risk factors.

Myocardial fibrosis measured by LGE-CMR was recently used as an independent predictor of adverse outcome in HCM patients.<sup>9,14</sup> However, LGE-CMR imaging mainly detects focal fibrosis and does not detect microscopic diffuse fibrosis. In contrast, CMR-T1 mapping may quantify diffuse as well as focal fibrosis.<sup>30</sup> Histopathological features related to unstable electrophysiological substrate may lead to lethal ventricular tachyarrhythmias and SCD.<sup>31</sup> In this study, we directly quantified the fibrotic changes in tissue samples and assessed its relevance to the long-term prognosis in HCM patients. These pathophysiologic changes may represent both micro-level and global fibrosis in HCM. Thus, increased fibrosis in the tissue samples of RV biopsy, as well as positive SAECG, QRS duration, and lower LVEF, can lead to VT/VF.

### Study Limitations

Although this was a single-center, retrospective study, all patients that were enrolled underwent a biopsy of the RV septum after being admitted to the hospital. RV biopsy was not routinely performed in HCM patients, but might be recommended in HCM patients with increasing LV diameter and reducing LV contractions, which are likely related to increased fibrotic change.<sup>31</sup> This cohort was slightly biased and had a poorer prognosis than general, asymptomatic HCM patients. As such, it remains unclear whether these findings are applicable to asymptomatic HCM patients. Second, no genetic testing data were obtained in this study, and genetic disorders may affect the prognosis. Third, the endomyocardial biopsy was performed from the RV septum, but not the LV, and does not represent

the entire heart; thus, only a limited number of samples could be evaluated. As such, there is a possibility that the results underestimated the overall fibrosis. Despite these limitations, this study demonstrated the clinical significance of tissue fibrosis and the physiological parameters for patients with HCM who are at risk of adverse cardiac events.

### Conclusions

Fibrotic changes observed in tissue samples from RV biopsies play an important role in the development of lethal ventricular arrhythmias in HCM patients with impaired systolic function. When combined with the LV systolic function, the extent of tissue fibrosis may assist in the risk stratification of HCM patients.

### Acknowledgments

This work was supported by grants from the Ministry of Health, Labour, and Welfare of Japan (2010-145); a Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas (22136011 A02, Aiba); a Grant-in-Aid for Scientific Research (C) (24591086 Aiba) from MEXT of Japan; a Research Grant for Cardiovascular Diseases (H24-033 Shimizu, Aiba) from the Ministry of Health, Labour, and Welfare of Japan; and an Intramural Research Fund for Cardiovascular Diseases of the National Cerebral and Cardiovascular Center (26-6-6 Wada).

### Disclosures

Conflict of Interests: None.

### References

- Gersh BJ, Maron BJ, Bonow RO, Dearani JA, Fifer MA, Link MS, et al. 2011 ACCF/AHA Guideline for the Diagnosis and Treatment of Hypertrophic Cardiomyopathy: A report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. Developed in collaboration with the American Association for Thoracic Surgery, American Society of Echocardiography, American Society of Nuclear Cardiology, Heart Failure Society of America, Heart Rhythm Society, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and Society of Thoracic Surgeons. *J Am Coll Cardiol* 2011; **58**: e212–e260. doi:10.1016/j.jacc.2011.06.011.
- Davies MJ, McKenna WJ. Hypertrophic cardiomyopathy: Pathology and pathogenesis. *Histopathology* 1995; **26**: 493–500.
- Maron BJ, Maron MS. Hypertrophic cardiomyopathy. *Lancet* 2012; **381**: 242–255.
- Maron BJ, Rowin EJ, Casey SA, Haas TS, Chan RH, Udelson JE, et al. Risk stratification and outcome of patients with hypertrophic cardiomyopathy ≥60 years of age. *Circulation* 2013; **127**: 585–593.
- Cripps TR, Counihan PJ, Frenneaux MP, Ward DE, Camm AJ, McKenna WJ. Signal-averaged electrocardiography in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 1990; **15**: 956–961.
- Bruder O, Wagner A, Jensen CJ, Schneider S, Ong P, Kispert EM, et al. Myocardial scar visualized by cardiovascular magnetic resonance imaging predicts major adverse events in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2010; **56**: 875–887.
- Hen Y, Iguchi N, Utanohara Y, Takada K, Machida H, Takayama M, et al. Prognostic value of late gadolinium enhancement on cardiac magnetic resonance imaging in Japanese hypertrophic cardiomyopathy patients. *Circ J* 2014; **78**: 929–937.
- Moon J, Hong YJ, Kim YJ, Shim CY, Jang Y, Chung N, et al. Extent of late gadolinium enhancement on cardiovascular magnetic resonance imaging and its relation to left ventricular longitudinal functional reserve during exercise in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Circ J* 2013; **77**: 1742–1749.
- O'Hanlon R, Grasso A, Roughton M, Moon JC, Clark S, Wage R, et al. Prognostic significance of myocardial fibrosis in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2010; **56**: 867–874.
- Olivetto I, Cecchi F, Poggesi C, Yacoub MH. Patterns of disease progression in hypertrophic cardiomyopathy: An individualized approach to clinical staging. *Circ Heart Fail* 2012; **5**: 535–546.
- Moon JC, Reed E, Sheppard MN, Elkington AG, Ho SY, Burke M, et al. The histologic basis of late gadolinium enhancement cardiovascular magnetic resonance in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2004; **43**: 2260–2264.

12. Moravsky G, Ofek E, Rakowski H, Butany J, Williams L, Ralph-Edwards A, et al. Myocardial fibrosis in hypertrophic cardiomyopathy: Accurate reflection of histopathological findings by CMR. *JACC Cardiovasc Imaging* 2013; **6**: 587–596.
13. Holzmann M, Nicko A, Kuhl U, Noutsias M, Poller W, Hoffmann W, et al. Complication rate of right ventricular endomyocardial biopsy via the femoral approach: A retrospective and prospective study analyzing 3048 diagnostic procedures over an 11-year period. *Circulation* 2008; **118**: 1722–1728.
14. Chan RH, Maron BJ, Olivetto I, Pencina MJ, Assenza GE, Haas T, et al. Prognostic value of quantitative contrast-enhanced cardiovascular magnetic resonance for the evaluation of sudden death risk in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2014; **130**: 484–495.
15. Kono AK, Yamada N, Higashi M, Kanzaki S, Hashimura H, Morita Y, et al. Dynamic late gadolinium enhancement simply quantified using myocardium to lumen signal ratio: Normal range of ratio and diffuse abnormal enhancement of cardiac amyloidosis. *J Magn Reson Imaging* 2011; **34**: 50–55.
16. Maron BJ, Wolfson JK, Epstein SE, Roberts WC. Intramural (“small vessel”) coronary artery disease in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 1986; **8**: 545–557.
17. Varnava AM, Elliott PM, Sharma S, McKenna WJ, Davies MJ. Hypertrophic cardiomyopathy: The interrelation of disarray, fibrosis, and small vessel disease. *Heart* 2000; **84**: 476–482.
18. Mewton N, Liu CY, Croisille P, Bluemke D, Lima JAC. Assessment of myocardial fibrosis with cardiovascular magnetic resonance. *J Am Coll Cardiol* 2011; **57**: 891–903.
19. Goto D, Kinugawa S, Hamaguchi S, Sakakibara M, Tsuchihashi-Makaya M, Yokota T, et al. Clinical characteristics and outcomes of dilated phase of hypertrophic cardiomyopathy: Report from the registry data in Japan. *J Cardiol* 2012; **61**: 65–70.
20. Yilmaz A, Kindermann I, Kindermann M, Mahfoud F, Ukena C, Athanasiadis A, et al. Comparative evaluation of left and right ventricular endomyocardial biopsy: Differences in complication rate and diagnostic performance. *Circulation* 2010; **122**: 900–909.
21. Adabag AS, Maron BJ, Appelbaum E, Harrigan CJ, Buros JL, Gibson CM, et al. Occurrence and frequency of arrhythmias in hypertrophic cardiomyopathy in relation to delayed enhancement on cardiovascular magnetic resonance. *J Am Coll Cardiol* 2008; **51**: 1369–1374.
22. Varnava AM, Elliott PM, Mahon N, Davies MJ, McKenna WJ. Relation between myocyte disarray and outcome in hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2001; **88**: 275–279.
23. Flett AS, Hayward MP, Ashworth MT, Hansen MS, Taylor AM, Elliott PM, et al. Equilibrium contrast cardiovascular magnetic resonance for the measurement of diffuse myocardial fibrosis: Preliminary validation in humans. *Circulation* 2010; **122**: 138–144.
24. Zlochiver S, Munoz V, Vikstrom KL, Taffet SM, Berenfeld O, Jalife J. Electronic myofibroblast-to-myocyte coupling increases propensity to reentrant arrhythmias in two-dimensional cardiac monolayers. *Biophys J* 2008; **95**: 4469–4480.
25. Schumacher B, Gietzen FH, Neuser H, Schummelfeder J, Schneider M, Kerber S, et al. Electrophysiological characteristics of septal hypertrophy in patients with hypertrophic obstructive cardiomyopathy and moderate to severe symptoms. *Circulation* 2005; **112**: 2096–2101.
26. Bongioanni S, Bianchi F, Migliardi A, Gnani R, Pron PG, Casetta M, et al. Relation of QRS duration to mortality in a community-based cohort with hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2007; **100**: 503–506.
27. Kamiyama N, Nezu S, Sawayama T, Kawahara Y, Samukawa M, Suetuna R, et al. Electrocardiographic features differentiating dilated cardiomyopathy from hypertrophic cardiomyopathy. *J Electrocardiol* 1997; **30**: 301–306.
28. Kawara T, Derksen R, de Groot JR, Coronel R, Tasseron S, Linnenbank AC, et al. Activation delay after premature stimulation in chronically diseased human myocardium relates to the architecture of interstitial fibrosis. *Circulation* 2001; **104**: 3069–3075.
29. Maron BJ, Spirito P, Shen WK, Haas TS, Formisano F, Link MS, et al. Implantable cardioverter-defibrillators and prevention of sudden cardiac death in hypertrophic cardiomyopathy. *JAMA* 2007; **298**: 405–412.
30. Ling LH, Kistler PM, Ellims AH, Iles LM, Lee G, Hughes GL, et al. Diffuse ventricular fibrosis in atrial fibrillation: Noninvasive evaluation and relationships with aging and systolic dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2012; **60**: 2402–2408.
31. Shirani J, Pick R, Roberts WC, Maron BJ. Morphology and significance of the left ventricular collagen network in young patients with hypertrophic cardiomyopathy and sudden cardiac death. *J Am Coll Cardiol* 2000; **35**: 36–44.

### Supplementary Files

#### Supplementary File 1

##### Methods

##### Table S1. Grade of myocardial disarray

**Figure S1.** (A,B) Representative biopsy samples from a single patient used to calculate the blue (fibrosis) area, in which the fibrosis (%area) was calculated by simply circling all tissue areas and then automatically calculating the ratio of blue in the total area.

**Figure S2.** Relationship between tissue fibrosis (%-area) from a right ventricular biopsy and duration of low amplitude signal <40 $\mu$ V (LAS40, ms) by signal-averaged ECG (SAECG) in patients with hypertrophic cardiomyopathy.

**Figure S3.** (A) Relationship between CMR-LGE %LV mass and tissue fibrosis by myocardial biopsy. (B) Sub-analysis of the relationship by degree of tissue fibrosis; mild (<10%), moderate (10–20%) and severe (>20%).

Please find supplementary file(s);  
<http://dx.doi.org/10.1253/circj.CJ-15-0104>

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業）

特発性心筋症に関する調査研究（H26・難治等（難）一般-043）

平成 27 年度 総会

日本医療研究開発機構研究費（難治性疾患実用化研究事業）

拡張相肥大型心筋症を対象とした多施設登録観察研究（15ek0109143）

平成 27 年度 班会議

日時：2015 年 7 月 4 日（土）12 時 05 分－13 時 05 分

場所：一橋大学 一橋講堂 学術総合センター1 階 特別会議室 101・102

#### 議題

1. 班長挨拶

北海道大学大学院医学研究科・循環病態内科学・教授 筒井 裕之

2. 難治性疾患政策研究事業と難治性疾患実用化研究事業について

北海道大学大学院医学研究科・循環病態内科学・教授 筒井 裕之

3. 拡張相肥大型心筋症を対象とした多施設登録観察研究

北海道大学大学院医学研究科・循環病態内科学・助教 松島 将士

4. その他

添付資料 1 出席者名簿

添付資料 2 「特発性心筋症に関する調査研究」研究計画書

添付資料 3 「拡張相肥大型心筋症を対象とした多施設登録観察研究」研究計画書

添付資料 4 「拡張相肥大型心筋症を対象とした多施設登録観察研究」登録状況

添付資料 5 特発性心筋症に関する調査研究の個別研究の発表抄録集

以上

**厚生労働科学研究費補助金**  
**難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業）**  
**「特発性心筋症に関する調査研究」 演題一覧**

- S-1-3** 心サルコイドーシスの新たな酸化ストレスマーカー（尿中 8OHdG）の臨床的有効性に関する検討  
小林 茂樹（山口大学大学院 医学系研究科 器官病態内科学）
- Y-4** Impaired Respiratory Function in MELAS-Induced Pluripotent Stem Cells with High Heteroplasmy Level  
小平 真幸（慶應義塾大学医学部 循環器内科）
- O-2-1** 心筋症における心筋生検有用性の相違に関する検討  
義久 精臣（福島県立医科大学 循環器・血液内科学講座）
- O-2-5** 心サルコイドーシス患者における P.acnes 特異的モノクローナル抗体の陽性率に関する検討  
浅川 直也（北海道大学 循環器内科）
- P-1-2** 心臓 MRI 用いた心サルコイドーシス早期診断における有用性  
國本 聡（日本大学 医学部内科学系 循環器内科学分野）
- P-3-1** 血清 FGF19 と心臓リモデリングの関連  
森田 英晃（大阪医科大学 循環器内科）
- P-3-4** 心筋症患者での High Mobility Group Box 1 (HMGB1) 発現とその意義に関する検討  
木下 大資（山形大学医学部 内科学第一講座）
- P-3-5** 心サルコイドーシスの肉芽腫病変とリンパ管分布の特徴  
松山 高明（国立循環器病研究センター 臨床検査部 臨床病理科）
- P-4-3** 心不全症例のインスリン抵抗性に対するナトリウム利尿ペプチドの潜在的作用  
井上 康憲（東京慈恵会医科大学付属病院 循環器内科）
- P-6-1** 慢性腎臓病を合併した慢性心不全患者への経口吸着薬 AST-120 投与の効果の検討  
北風 政史（国立循環器病研究センター 心臓血管内科）
- P-13-2** 左室流出路狭窄を伴う心肥大を呈した E66Q 変異による心ファブリー病の姉妹例  
及川 雅啓（福島県立医科大学 循環器・血液内科学講座）

## 心サルコイドーシスの新たな酸化ストレスマーカー(尿中 8OHdG)の臨床的有効性に関する検討

小林茂樹、矢野雅文

山口大学大学院医学系研究科 器官病態内科学

【目的】心サルコイドーシス(CS)の活動性・ステロイド治療の効果判定・予後予測に尿8-hydroxy-2'-deoxyguanosine(8OHdG)が有用かどうかについて検討した。【方法】CSと診断した31症例を対象に、以下について検討した。1)冠静脈洞、大動脈の血中8OHdG濃度と尿中8OHdG濃度を測定し、PETで活動性のあるCS患者と活動性のいないCS患者で比較検討した 2)活動性のあるCS患者にステロイド治療を行い、治療前後の尿中8OHdG濃度および<sup>18</sup>F-FDG PETの変化が相関するかどうか 3)CS患者の心血管イベントを前向きに平均4年フォローアップした。【結果】1)活動性のあるCS患者は、活動性のないCS患者に比較して、血清の8OHdG濃度は大動脈よりも冠静脈洞で有意に高値であり、尿中8OHdGの濃度も有意に高値であった。2)ステロイド治療前後で、尿中8OHdGの変化と<sup>18</sup>F-FDG PETの変化は有意に相関した。3)尿中8OHdGは、多変量解析で独立した予後規定因子であった。【総括】尿中8OHdG濃度は、CSの活動性の評価・ステロイド治療の効果判定・予後評価に有用と思われた。

「本研究は厚生労働省「特発性心筋症に関する調査研究」における個別研究として実施したものである」



## Impaired respiratory function in MELAS-induced pluripotent stem cells with high heteroplasmy level

小平真幸<sup>1,2</sup>、湯浅慎介<sup>1</sup>、畠山英之<sup>3</sup>、後藤雄一<sup>3</sup>、福田恵一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>慶應義塾大学医学部循環器内科、<sup>2</sup>足利赤十字病院、<sup>3</sup>国立精神神経センター

Mitochondrial diseases are heterogeneous disorders, caused by mitochondrial dysfunction. Mitochondria are not regulated solely by nuclear genomic DNA but by mitochondrial DNA. It is difficult to develop effective therapy for mitochondrial disease because of lack of mitochondrial disease models. Mitochondrial myopathy, encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes (MELAS) is one of the major mitochondrial diseases. The aim of this study is to generate MELAS-specific induced pluripotent stem cells (iPSCs) and demonstrate that MELAS-iPSCs can be mitochondrial disease models. We successfully established iPSCs from the primary MELAS-fibroblasts carrying 77.7% of m.3243A>G heteroplasmy. MELAS-iPSC lines ranged from 3.6% to 99.4% of m.3243A>G heteroplasmy levels. The enzymatic activities of mitochondrial respiratory complexes indicated that MELAS-iPSC-derived fibroblasts with high heteroplasmy level showed the deficiency of complex I activity but MELAS-iPSC-derived fibroblasts with low heteroplasmy level showed normal complex I activity. Our data indicate that MELAS-iPSCs can be model for MELAS but we should carefully select MELAS-iPSCs in heteroplasmy levels and respiratory functions for mitochondrial disease modeling.

本研究は厚生労働省「特発性心筋症に関する調査研究」における個別研究として実施したものである

## 第1回心筋症研究会 演題

### 心筋症における心筋生検有用性の相違に関する検討

義久精臣<sup>1</sup>、鈴木聡<sup>1</sup>、及川雅啓<sup>1</sup>、小林淳<sup>1</sup>、竹石恭知<sup>1</sup>

<sup>1</sup>福島県立医科大学 循環器・血液内科学講座

【目的】各種心筋症の診断における心筋生検の有用性の相違については明らかでない。【方法】心筋生検前後の診断の相違について検討した。【結果】拡張型心筋症疑い（D群 143例）、肥大型心筋症疑い（H群 75例）、その他心筋症疑い（C群 160例）の合計 378例（平均 56歳、男性 234例）を対象とした。各群における生検後の診断は以下の通りであった。D群：拡張型心筋症に矛盾せず（113例、79.0%）、サルコイドーシス（1例、0.7%）、非特異的所見（29例、20.3%）、H群：肥大型心筋症（29例、38.7%）、アミロイドーシス（3例、4.0%）、Fabry病（2例、2.7%）、非特異的所見（41例、54.7%）、C群：アミロイドーシス（3例、1.9%）、肥大型心筋症（2例、1.3%）、サルコイドーシス（2例、1.3%）、Fabry病（2例、1.3%）、非特異的所見（151例、94.4%）。生検前後の臨床診断一致率はD群（79.0%）、H群（29.0%）、C群（0%）であった。【考察】拡張型心筋症の診断における心筋生検の有用性は相対的に低い。一方、肥大型心筋症を疑う症例では心筋生検が特に有用である可能性が示唆された。

本研究は厚生労働省「特発性心筋症に関する調査研究」における個別研究として実施したものである。

## 心サルコイドーシス患者における *P. acnes* 特異的モノクローナル抗体の陽性率に関する検討

浅川直也<sup>1</sup>、榊原守<sup>1</sup>、野口圭士<sup>1</sup>、神谷究<sup>1</sup>、吉谷敬<sup>1</sup>、久保田佳奈子<sup>2</sup>、永井利幸<sup>3</sup>、池田善彦<sup>4</sup>、植田初江<sup>4</sup>、森本紳一郎<sup>5</sup>、廣田真規<sup>6</sup>、折居誠<sup>7</sup>、赤阪隆史<sup>7</sup>、新宮康栄<sup>8</sup>、松居喜郎<sup>8</sup>、内田佳介<sup>9</sup>、江石義信<sup>9</sup>、筒井裕之<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北海道大学循環器内科、<sup>2</sup>北海道大学病理部、<sup>3</sup>国立循環器病センター循環器内科、<sup>4</sup>国立循環器病センター病理部、<sup>5</sup>総合青山病院循環器内科、<sup>6</sup>葉山ハートセンター心臓血管外科、<sup>7</sup>和歌山県立医科大学循環器内科、<sup>8</sup>北海道大学循環器外科、<sup>9</sup>東京医科歯科大学人体病理学分野附属病院病理部

【目的】心サルコイドーシスは、サルコイドーシス患者の予後を規定する重要な病変であり、ステロイド治療を含めた治療方針を決定するため、他の心筋疾患との鑑別を迅速に行うことが重要である。近年、*P. acnes* への感染、免疫反応がサルコイドーシスの原因として提唱されている。本研究では手術・剖検標本を用いて、心サルコイドーシスとその他の心疾患における *P. acnes* 特異的モノクローナル (PAB) 抗体の陽性率を比較した。

【方法】対象患者は 2000 年 1 月～2014 年 4 月までの間に、本研究参加施設において手術または剖検の際に心筋を採取した、心サルコイドーシス (n=11; CS group)、心筋炎 (n=8; M group)、その他の心筋症 (n=20; CM group) を対象とし、PAB 抗体による免疫染色を行った。

【結果】CS group では肉芽腫内において、71.4%の症例で PAB 抗体の陽性所見を認めた。炎症細胞浸潤の存在は M group と CS group で同等であった (87.5% vs. 90.1, P=1.00)、PAB 抗体の陽性率は M group と比較して、CS group で有意に高値であった (0% vs. 70%, P=0.01)。線維化内、心筋内における PAB 抗体の陽性率は 3 群間で差はなかった。

【結論】心サルコイドーシス患者において、PAB 抗体を用いた免疫染色では、非乾酪性肉芽腫、炎症細胞浸潤を認める部位において高率に陽性となり、診断の補助となる可能性がある。

本研究は厚生労働省「特異性心筋症に関する調査研究」における個別研究として実施したものである。

## 心臓 MRI 用いた心サルコイドーシス早期診断における有用性

國本聡、山本顕介、中井俊子、奥村恭男、加藤真帆人、高山忠輝、廣高史、渡辺一郎、平山篤志

日本大学医学部内科学系循環器内科学分野

【目的】心臓サルコイドーシス(心サ症)は進行性の二次性心筋症のひとつであり、現在の診断基準に照らし確定診断が得られた段階では、すでに重症化していることがほとんどであり、その場合の予後は大変不良である。我々は伝導障害を呈する心サ症について、その早期診断における CMR の臨床的有用性を検討した。

【方法】高度房室ブロックの原因検索のため CMR を施行した症例を対象とし、CMR による心サ症の早期診断と、その診断に基づく早期治療の臨床的効果を前向きに調査した。

【結果】観察期間である 2009 年から 2013 年の総撮像数は 1487 症例であった。このうち高度房室ブロックの原因検索を目的に施行した対象症例は 66 例であり、遅延造影陽性症例は 13 例(20%)、CMR により心サ症と診断した症例は 9 例(14%)であった。うち 5 例に早期治療を行い 3 例(60%)でブロックの改善を認め、1 例においてはペースメーカー植込みを回避できた。

【考察】CMR は、伝導障害によって心サ症が疑われる症例に対する早期診断において有用であり、早期治療が可能となることで予後悪化を抑制できる可能性がある。

(本研究は厚生労働省「特発性心筋症に関する調査研究」における個別研究として実施したものである)

## 血清 FGF19 と心臓リモデリングの関連

森田英晃、藤田修一、坂根和志、武田義弘、石坂信和

大阪医科大学 循環器内科

### 【目的】

FGF19 サブファミリーのなかで、FGF21 および FGF23 は心臓リモデリングと関連している可能性が示唆されている。今回われわれは、血清 FGF19 と心機能・心肥大の関連を検討した。

### 【方法】

循環器内科に入院となった男性 78 症例(平均年齢は  $70.4 \pm 9.4$  歳)を対象とした。心エコーから左室駆出率(LVEF)、左室重量係数(LVMI)を求めた。FGF19、FGF23 は ELISA 法にて測定した。

### 【結果】

LVMI は、 $\log(\text{FGF23})$ ( $R=0.30$ )、 $\log(\text{FGF19})$ ( $R=-0.29$ )と、また、LVEF は  $\log(\text{FGF23})$  ( $R=-0.30$ )と有意な相関を認めた。年齢、高血圧、 $\log(\text{eGFR})$ 、HOMA-IR、 $\log(\text{FGF19})$ 、 $\log(\text{FGF23})$ を独立変数、LVMI を従属変数とした多変量回帰分析では、 $\log(\text{FGF19})$ は、標準化  $\beta = -0.28$ ( $p=0.10$ )で LVMI と有意な関連を認めた。

### 【考察】

FGF19 はインスリン抵抗性、FGF23 と独立して心肥大と負の関連を有している。  
本研究は厚生労働省「特発性心筋症に関する調査研究」における個別研究として実施したものである。

## 心筋症患者での High Mobility Group Box 1 (HMGB1) 発現とその意義に関する検討

木下 大資<sup>1</sup>、宍戸 哲郎<sup>1</sup>、高橋 徹也<sup>1</sup>、渡邊 哲<sup>1</sup>、久保田 功<sup>1</sup>

<sup>1</sup>山形大学医学部 内科学第一講座

- ◆ 【目的】 HMGB1 は非ヒストン核蛋白であり、転写因子活性の調節や損傷 DNA の修復に関与する。我々は、神経体液性因子などの刺激により心筋細胞の HMGB1 の局在や発現が変化することを報告している。そこで、本研究では、心筋症の組織的進展度と HMGB1 の発現の変化を明らかにすることを目的とした。
- ◆ 【方法】 心筋症を疑い心筋生検を行った 32 例の心不全患者のうち、心筋症と診断した症例 27 例を心筋症群、心筋症ではないと診断した 5 例を Control として用いて HMGB1 の発現を検討した。また、組織的に中等度以上の変化を abnormal 群として軽度の群と比較を行った。
- ◆ 【結果】 心筋症群は Control に比較して BNP 高値、左室駆出率低値を呈していたが、年齢は有意差を認めなかった。免疫染色での HMGB1 陽性細胞数は Control に比較して心筋症群で有意に減少していた。組織的異常を認める群では、軽微な群に比べ、有意に HMGB1 陽性細胞の比率が低値であった。
- ◆ 【考察】 心筋症患者では、HMGB1 核内陽性細胞が優位に少なく、組織的傷害の程度と関連を認めた。核内 HMGB1 発現を維持することが、心筋症予防や治療のターゲットとなる可能性が示唆された。「本研究は厚生労働省「特発性心筋症に関する調査研究」における個別研究として実施したものである」

## 心サルコイドーシスの肉芽腫病変とリンパ管分布の特徴

松山高明<sup>1</sup>、岩上直嗣<sup>2</sup>、植田初江<sup>1</sup>、草野研吾<sup>2</sup>

<sup>1</sup>国立循環器病研究センター 臨床検査部 臨床病理科、

<sup>2</sup>国立循環器病研究センター 心臓血管内科部門 不整脈科

【目的】サルコイドーシスの肉芽腫性病変は肺門部リンパ節が好発部位であるように、リンパ管の分布に沿って形成される傾向が指摘されている。心サルコイドーシスの肉芽腫病変の局在も同様にリンパ管分布の関与が考えられる。これまで我々は、正常剖検心のリンパ管分布の組織学的解析を行い、心サルコイドーシスの主要な好発部位である心室中隔頂上部の His 束およびその周囲の線維輪部分にリンパ管が比較的豊富に分布していることを示した。今回、心サルコイドーシス症例で検討した。

【方法】心サルコイドーシスの剖検症例 3 例（女性 2 例）を用いて、肉芽腫性病変周囲のリンパ管分布を免疫染色（D2-40; podoplanin, DAKO, Japan）により観察した。

【結果】いずれの症例も多核巨細胞を含む肉芽腫の形成がみられた。多くの肉芽腫性病変の周囲には D2-40 が陽性の小管腔がみられ、肉芽腫とその周囲にはリンパ管が豊富であると思われた。また、肉芽腫が線維癒痕化した部分でもリンパ管が残存したところがみられた。

【考察】リンパ管分布の特徴を把握することは、心サルコイドーシスの肉芽腫性病変の形成の機序を解明する一助になる可能性がある。

「本研究は厚生労働省「特発性心筋症に関する調査研究」における個別研究として実施したものである」

## 心不全症例のインスリン抵抗性に対するナトリウム利尿ペプチドの潜在的 作用

井上 康憲<sup>1</sup>、川井 真<sup>1</sup>、吉村 道博<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東京慈恵会医科大学付属病院循環器内科

- ◆ 背景：心不全と糖尿病は、その進展過程でお互いが悪影響を及ぼしている。しかし、両者の同時期での関係についての報告は少ない。本研究では、ナトリウム利尿ペプチド (NP) とインスリン抵抗性(IR) の関連性を加味して心不全と糖尿病の関係を調べた。
- ◆ 方法：心臓カテーテル検査を行った 840 症例を用いて解析した。
- ◆ 結果：単回帰分析で HbA1c は心係数と負の相関関係にあったが、左心拡張末期圧 (LVEDP) とは有意な関係を認めなかった。寧ろ BNP と負の相関を示した。多変量解析では、HbA1c は LVEDP および BNP と有意な相関は示さなかった。HbA1c の上昇は、NP と IR の潜在的な負の関係で抑えられていると想定して次の多変量解析を行った。BNP は年齢、クレアチニン、LVEDP と正の相関を示し、男性、BMI そして HOMA-IR ( $P < 0.001$ ) と負の相関を示した。一方、HbA1c とは有意な関係は認めなかった。
- ◆ 考察：糖尿病と心不全は相互に悪化すると思われるが、NP の IR 改善作用は強く、その関係性は薄められている。(本研究は厚生労働省「特発性心筋症に関する調査研究」における個別研究として実施したものである。)



## 慢性腎臓病を合併した慢性心不全患者への 経口吸着薬 AST-120 投与の効果の検討

今津美樹<sup>1</sup>、朝倉正紀<sup>1</sup>、高濱博幸<sup>1</sup>、浅沼博司<sup>2</sup>、舟田晃<sup>3</sup>、天木誠<sup>1</sup>、菅野康夫<sup>1</sup>、

大原貴裕<sup>1</sup>、長谷川拓也<sup>1</sup>、神崎秀明<sup>1</sup>、盛田俊介<sup>4</sup>、安斉俊久<sup>1</sup>、北風政史<sup>1</sup>

(発表者：北風政史)

<sup>1</sup>国立循環器病研究センター、<sup>2</sup>京都府立医科大学付属病院、

<sup>3</sup>金沢大学付属病院、<sup>4</sup>東邦大学医療センター 大森病院

【目的】尿毒症物質の一つであるインドキシル硫酸 (IS) は、腎疾患だけでなく心血管疾患の予後との関連も報告されているが、心血管疾患における尿毒症物質の影響については不明な点が多い。今回我々は、慢性心不全患者における IS の意義について検討した。

【方法】当院の CKD stage 3 以下の慢性心不全入院患者群 49 名と、有田町コホート研究から性別と eGFR のマッチングにより選出したコントロール群を比較した。次に外来通院中の CKD stage 3-5 の慢性心不全患者より、1 年間の経口吸着薬投与群、非投与群 (各々 8 名) を選出し投与前後を比較した。

【結果】心不全群では、コントロール群と比べ血漿 IS 値、拡張能の指標の一つである E/e' が高値であり、左室内径短縮率 (FS) は低値だった。次に、経口吸着薬の投与群では、投与後に血漿 IS 値、クレアチニン値、BNP 値が低下し、FS と E/e' は改善した。一方で非投与群では、これらの値は変化しなかった。

【考察】慢性心不全患者における経口吸着薬の投与では、腎機能だけでなく心臓の収縮能と拡張能が改善を認めた。経口吸着薬は拡張機能障害のある心不全の新たな治療薬となる可能性がある。

本研究は厚生労働省「特発性心筋症に関する調査研究」における個別研究として実施したものである。

## 左室流出路狭窄を伴う心肥大を呈した E66Q 変異による心ファブリー病の姉妹例

及川雅啓<sup>1</sup>、坂本信雄<sup>1</sup>、小林淳<sup>1</sup>、鈴木聡<sup>1</sup>、義久精臣<sup>1</sup>、八巻尚洋<sup>1</sup>、中里和彦<sup>1</sup>、鈴木均<sup>1</sup>、齋藤修一<sup>1</sup>、中野創<sup>2</sup>、竹石恭知<sup>1</sup>

<sup>1</sup>福島県立医科大学循環器・血液内科学講座、<sup>2</sup>弘前大学大学院医学研究科皮膚科学講座

症例は 66 歳女性。胸部不快感を主訴に近医受診し閉塞性肥大型心筋症疑いにて当院紹介となった。心エコーでは両室肥大と 60 mmHg の圧較差を伴う左室流出路狭窄を認め、心筋生検にて心筋細胞の空胞化と PAS 染色陽性の沈着物、電子顕微鏡検査にて Zebra body が確認された。α GLA 活性は正常範囲であり、遺伝子解析において E66Q 変異が同定された。皮疹、腎機能障害など他臓器の所見は認められないため、心ファブリー病と診断した。本症例の妹も 50 歳時より左室肥大と約 100mmHg の圧較差を伴う左室流出路狭窄を認め、閉塞性肥大型心筋症とされていたが、姉の診断をきっかけに遺伝子解析を行ったところ E66Q 変異を認め、心ファブリー病と診断した。現在 E66Q 変異の病因性については議論があり、治療を必要としない症例も多いとされるが、本例のように E66Q 変異を持ち、α GLA 活性低下が認められないにも関わらず、心ファブリー病を発症する場合もあり、E66Q 変異が心臓にもたらす影響を考察する上で興味深い症例と考えられた。尚、本研究は厚生労働省「特発性心筋症に関する調査研究」における個別研究として実施した。

